

COCCIDIOSE INTESTINALE DE LA VIPÈRE ASPIC
À *CYCLOSPORA VIPERAE* NOV. SP.,

PAR M^{me} M. PHISALIX.

L'intestin de la Vipère aspic est fréquemment envahi par des Coccidies. Sur un lot de 45 Vipères adultes capturées en mai et juin dernier aux environs des Laumes (Côte-d'Or), 41 sujets, soit 91 p. 100, portaient la même Coccidie, différente des deux espèces, *Caryospora simplex* et *Diplospora fragilis*, trouvées en 1904 par M. L. Léger dans l'intestin de Vipères du Dauphiné⁽¹⁾.

Chez nos sujets, nous avons pu observer au complet les stades des deux formes asexuée et sexuée de multiplication de la Coccidie, la sporogonie seule étant toutefois plus fréquente que la schizogonie.

L'examen de la pulpe fraîche, obtenue en râclant l'épithélium intestinal, ainsi que celui des coupes, a montré que l'infection était surtout développée dans les deux tiers antérieurs de l'intestin, ne franchissant pas en avant le confluent de l'intestin avec la masse formée par la rate et le pancréas.

Nous avons employé comme fixateurs le sublimé acétique et le liquide de Bouin; comme colorants, l'hématéine éosine-orange et le Giemsa.

SCHIZOGONIE.

Examen des coupes. — Les plus jeunes schizontes se présentent sous la forme de petites sphères de 4 à 5 μ de diamètre, pourvues de 1 à 4 noyaux, et qui sont localisées au-dessous du plateau des cellules épithéliales. C'est dans cette région externe des cellules que ceux d'entre eux qui donneront des mérozoïtes effectuent tout leur développement; on n'aperçoit jamais, en effet de corps à mérozoïtes libres dans la lumière intestinale.

Les éléments plus gros, légèrement ovoïdes, ont de 4 à 18 noyaux, et dans ceux qui sont arrivés à maturité, on voit la masse divisée tout entière, sans aucun reliquat, en petits croissants nucléés, disposés en barillet. Les

(1) L. LÉGER, Protozoaires parasites des Vipères (*Caryospora simplex*). [Bull. mém. Ass. fr. Av. sc., n° 9, p. 268. Grenoble, 1904.]

L. LÉGER, *Caryospora simplex*. Coccidie monosporée et la classification des Coccidies. (Abdruck aus dem Arch. f. Protistenkunde von Dr F. Schaudin, léna, 1911.)

noyaux des mérozoïtes fixent fortement les colorants basiques; leur protoplasme reste plus clair. On voit également des corps à mérozoïtes mûrs et en voie de déhiscence laissant évader leurs mérozoïtes, qui vont se fixer sur les cellules environnantes.

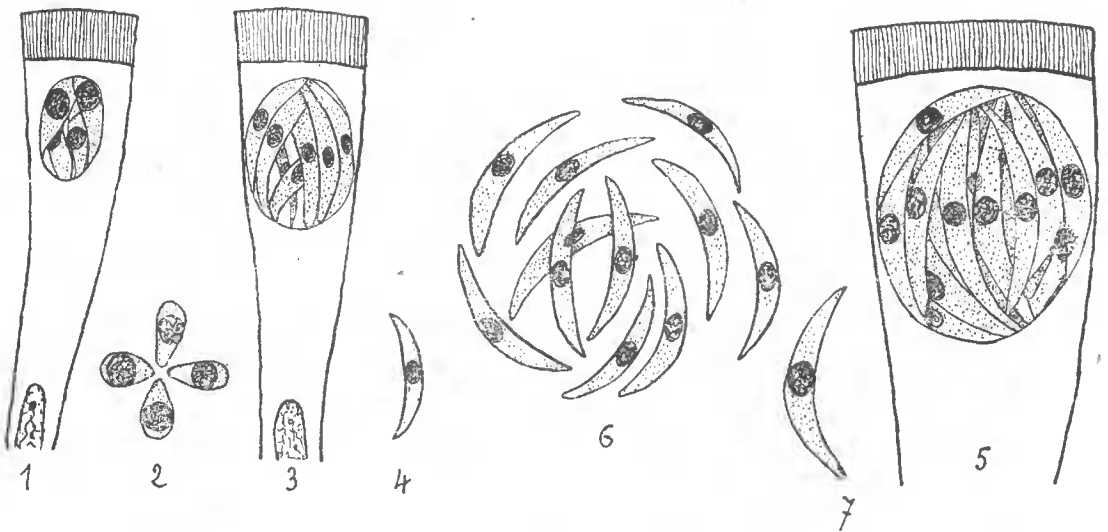


Fig. 1. — Multiplication schizogonique de *Cyclospora viperæ* : 1, 3, 5, corps à mérozoïtes de grandeur différente à maturation; 2, 4, 7, les trois sortes de mérozoïtes; 2 et 6, épanouissement des corps à mérozoïtes. (Au même grossissement.)

Examen de la pulpe épithéliale fraîche. — Par le râclage de l'épithélium intestinal, un certain nombre de corps à mérozoïtes sont mis en liberté sous forme de petites masses ellipsoïdales. Lorsque ces corps sont à maturité, on les voit exécuter de petits mouvements de giration ou de balancement sur place sous les efforts des mérozoïtes qui tendent à se libérer. Puis l'épanouissement commence: d'abord par l'écartement des mérozoïtes, jusque là serrés les uns contre les autres, ensuite par les mouvements plus amples de flexion et d'extension des mérozoïtes qui s'évadent successivement et se dispersent bientôt.

Un fait à remarquer, c'est que les corps à mérozoïtes, où les éléments sont disposés en barillet, sont, à maturité, de trois grosseurs différentes et donnent trois sortes de mérozoïtes, qui diffèrent entre eux, soit par la taille, soit par la taille et la forme. Les plus gros mesurent 10 et 8 μ suivant leurs deux axes; ils comprennent 12-18 mérozoïtes; ceux-ci ont la forme de croissants ayant 6 μ de long sur 1 μ 5 de large dans la région médiane, qui est celle de leur noyau. Les moyens mesurent 6 μ sur 4 μ 5; les 6 à 8 mérozoïtes qui les composent ont aussi la forme de croissants; ils ont même diamètre que les précédents, mais leur longueur ne dépasse pas 4 μ 5. Les corps en croissant se meuvent dans le milieu liquide de la pulpe

en prenant diverses attitudes de flexion, totale ou partielle, et d'extension. Enfin, les barillets plus petits n'ont que $4\ \mu\ 5$ sur $3\ \mu$ suivant leurs axes; ils s'étalent en rosaces formées de 4-6 mérozoïtes courts, piriformes, de 2 à $3\ \mu$ de long sur $1\ \mu\ 5$ dans leur plus grande largeur. La multiplication schizogonique est parfois très intense, intéressant le quart ou le cinquième des cellules épithéliales des régions infectées; nous l'avons observée seule, à divers degrés, sur 6 des 41 sujets examinés.

SPOROGONIE.

Examen des coupes. — Les microgamétocytes évoluent pour la plupart dans la région externe, sous le plateau des cellules épithéliales. De même aussi que les corps à mérozoïtes, on les rencontre parfois dans des régions

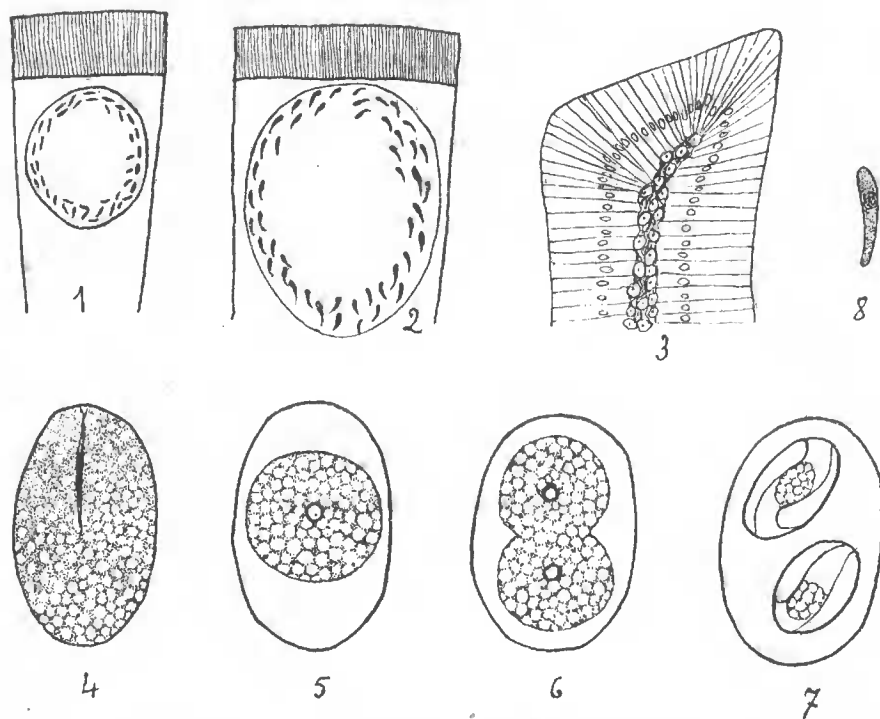


Fig. 2. — Multiplication sporogonique de *Cyclospora viperæ* : 1 et 2, microgamétocytes dans les cellules épithéliales de l'intestin de la Vipère aspic; 3, localisation des macrogamètes dans les lames conjonctives sous-épithéliales; 4 à 7, développement de l'ookyste; 8, sporozoïte. (Sauf n° 3; même grossissement que figure 1.)

plus profondes et jusqu'au contact de la membrane basale. Leur noyau se divise un grand nombre de fois, et se résout en une poussière de corps bacilliformes qui se portent à la périphérie. A son complet développement, le microgamétocyte forme une masse irrégulièrement sphérique pouvant atteindre $15\ \mu$ suivant son plus grand diamètre. Les microgamètes ont

alors la forme de virgules qui mesurent $1\ \mu\ 2$ de long sur une largeur maxima inférieure à $1\ \mu$. A toutes les phases de leur développement ils fixent fortement les colorants basiques. Nous n'avons pu ni observer de cils, ni, dans la pulpe fraîche, assister à leurs mouvements. Le nombre des microgamétocytes est maximum vers la fin de la schizogonie; on n'en trouve plus lorsque l'infection est simple et qu'elle a passé au mode sporogonique.

Contrairement aux autres éléments reproducteurs, les macrogamètes se développent, pour la plupart, dans la profondeur de la cellule épithéliale, comme l'*Eimeria anguillae*, trouvée en 1922 dans l'intestin de l'Anguille par MM. L. Léger et Hollande. On les trouve même le plus souvent accumulés dans les mailles des lames conjonctives qui relient les replis épithéliaux. Cette localisation, la plus fréquente et la plus abondante, souffre parfois des exceptions, car on rencontre aussi quelques macrogamètes isolés dans la région moyenne ou sous le plateau des cellules épithéliales. Les jeunes macrogamètes apparaissent comme des corps ovoïdes mesurant $13\ \mu$ sur $10\ \mu$ suivant leurs deux axes; leur noyau central et sphérique a un diamètre de 3 à $4\ \mu$; il fixe les colorants basiques, tandis que le protoplasme se teinte très faiblement en une masse pâle et réticulée. Cet aspect ne donne qu'une idée incomplète de la structure du macrogamète, car elle est modifiée par les réactifs de la préparation. Les ookystes mûrs sont incolores et hyalins, sauf lorsque le liquide fixateur contenait de l'acide picrique : toute leur masse est alors colorée en jaune d'or.

Examen de la pulpe épithéliale fraîche. — Si l'examen des coupes suffit à suivre le développement du microgamétocyte, il est tout à fait insuffisant à observer celui du macrogamète en ookyste mûr : il faut examiner à l'état frais la pulpe épithéliale.

Les plus jeunes macrogamètes décelables se distinguent tout d'abord par leur forme ovoïde, leur contenu uniformément granuleux, entouré d'une membrane mince, et leur noyau central réfringent. Mis en liberté par le pulpage de l'épithélium, ils mesurent 9 et $6\ \mu$ suivant leurs deux axes. Leur membrane est à ce moment perméable aux colorants. Quelques-uns montrent le noyau en fuseau indiquant que la conjugaison a eu lieu. L'ookyste constitué prend une forme régulière, ellipsoïdale; sa membrane devient plus épaisse, plus rigide et imperméable aux colorants; il mesure $10\ \mu\ 5$ sur $7\ \mu\ 5$ suivant les deux axes. Le développement s'effectue suivant le mode classique, qu'il suffit ainsi de résumer : la masse granuleuse, qui remplissait primitivement la membrane, se condense peu à peu vers le centre en une masse sphérique; le noyau se divise ensuite en deux, en même temps que la sphère granuleuse s'étrangle en bissac, puis se divise en 2 sporoblastes uninucléés. Ceux-ci ont une forme ovoïde, leur membrane très mince limite un contenu uniformément granuleux.

Ils mesurent $7\ \mu\ 5$ et $6\ \mu$ suivant leurs deux axes. Leur développement en sporocystes aboutit dans chacun de ceux-ci à la formation de 2 sporozoïtes disposés tête-bêche sur un reliquat granuleux. Chaque sporozoïte a la forme d'un vermicule dont une des extrémités est un peu renflée tandis que l'autre est amincie; il mesure $7\ \mu\ 5$ de long sur un diamètre un peu inférieur à $1\ \mu$ dans la région moyenne. Le noyau est situé vers le milieu et prend fortement les colorants basiques.

L'ookyste de cette coccidie renferme ainsi à maturité 4 sporozoïtes contenus dans deux sporocystes. En raison de ce caractère, qui est celui du genre *Cyclospora*, nous désignons la coccidie sous le nom de *Cyclospora viperae*.

Dans tous les cas où l'infection était massive, nous avons observé dans les différentes couches de l'intestin une grande abondance des leucocytes éosinophiles.

INFECTION EXPÉRIMENTALE.

En diverses occasions, nous avons constaté que les Vipereaux nouveau-nés (une vingtaine au moins) ne présentent aucune trace d'infection coccidienne, soit dans le tube digestif, soit ailleurs, tandis que ceux qui ont vécu quelque temps en liberté, ou en compagnie de sujets adultes infectés, et buvant ainsi au même bassin contenant parfois les déjections, montrent souvent une infection commençante.

Les Vipereaux nouveau-nés constituent donc un matériel de choix pour les essais d'infection expérimentale.

Trois Vipereaux, nés en captivité le même jour d'une mère indemne d'infection coccidienne, ont été aussitôt placés dans une cuve en verre, contenant un abreuvoir avec de l'eau, le tout préalablement stérilisé.

A chaque sujet nous avons administré à la sonde et dans l'estomac un demi-centimètre cube d'une bouillie très riche en ookystes mûrs.

L'un des sujets a été sacrifié vingt-quatre heures après le repas infectant: l'estomac ne contenait plus que les coques vides des ookystes et des sporocystes; les sporozoïtes avaient ainsi été libérés, et avaient gagné l'intestin qui présentait une infection commençante et étendue dans toute sa moitié antérieure, car toutes les cellules épithéliales étaient parasitées; de rares sporozoïtes libres étaient restés dans la lumière de l'intestin.

Les deux autres Vipereaux sont morts spontanément, l'un 4 jours, l'autre 6 jours après avoir reçu la pulpe infectante. Ils présentaient l'un et l'autre une infection commençante plus étendue en surface que chez le premier sujet, car elle intéressait aussi la région stomacale la plus voisine du pylore et l'intestin dans toute sa longueur: des plages entières de l'épithélium étaient envahies par de petits corps ovoïdes situés sous le plateau épithélial et ne dépassant pas 5 à $6\ \mu$. Aucune forme libre n'était restée inutilisée

dans tout le tube digestif, et les trois Vipereaux n'avaient rien rejeté au dehors. Il est donc probable que leur infection a été déterminée par le repas infectant. Il est moins probable que ce soit elle qui ait déterminé la mort des deux derniers; mais c'est toutefois possible, et il en faudrait déduire qu'ils sont beaucoup plus sensibles que les adultes à l'infection coccidienne.

L'expérience n'a pu être continuée au delà, en raison des difficultés à nourrir les Vipereaux en captivité, d'en avoir un assez grand nombre pour que quelques-uns survivent le temps suffisant à permettre le développement complet du parasite, et enfin de posséder en même temps *des ookystes* mûrs de la même coccidie.